

PARENTERAL SOLÜSYONLARDA PİROJEN MADDE OLUŞUMU VE GELİŞİMİ ÜZERİNDE ETKİLİ FAKTÖRLERİN İNCELENMESİ

Uzm. Ecz. Güvenç YALIM (x)

ÖZET:

Bu çalışmada, Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Parenteral Solüsyonlar Laboratuvarında üretilen Serum Glikoze % 5,500 cc.ler farklı saklama şartları, ışık, sıcaklık değişimleri gibi faktörlerin, solüsyonlarda pirojen madde oluşumu ve gelişimi üzerinde etkili olup olmadığının saptanabilmesi için teste tabi tutuldular. Elde edilen sonuçlara göre, bu faktörlere ek olarak, üretim esnasında bir lak tabakasıyla kaplanmış lastik mantarların kullanılıp kullanılmamasının, şişe ve lastik kapakların defalarca kullanılmasının solüsyonlarda pirojen madde oluşumu üzerinde etkisi olmadığı görüldü. Ayrıca, Otoklav Sterilizasyonun pirojen madde tahribinde yetersiz olduğu saptandı. Solüsyonun pH değeri ile pirojenite göstermesi arasında bir ilişki saptanamadı.

GİRİŞ

Pirojen, kelime anlamı olarak "ısı meydana getiren" demektir. (1) Bu maddelerin sudan ileri gelen maddeler olarak parenteral solüsyonlarda kontaminasyona neden oldukları ve distilasyonun uygun şartlarda yapılması halinde elimine edilebilecekleri saptanmıştır. Pirojen maddeler yapı olarak mikrobik yapıdadırlar. Etki güçleri ve diğer özellikleri, bu maddeleri oluşturan mikroorganizmalara bağımlılık göstermektedir. En güçlü pirojenik maddeleri oluşturan mikroorganizmalar Gram (—) olanlardır (2). Gram (+) bakteriler, mayalar, küfler ve virüsler daha az pirojenik özellik gösterirler. Ayrıca çözücü, çözünen madde, kullanılan cihaz ve materyelin solüsyon hazırlanırken mikroorganizmalarla kontaminasyonu da, son ürünün pirojenik özellik taşımasına neden olur. Her ne kadar bazı saf halde elde edilen pirojen maddelerin, termolabil özellikte oldukları görülmüşse de (3) bir çok pirojen maddenin termostabil oldukları sanılmaktadır. Bu nedenle de son ürünün ısı ile sterilizasyonu, tüm pirojenik kirliliği yok edemez denilmektedir. Pirojen maddelerin, kuvvetli bazik karakterde anyon değiştirici rezin kullanılarak gi-

(x) Gülhane As. Tıp Akademisi, Farmakoloji ve Toks. Enst. Başasistanı.

derilebileceği, fakat kuvvetli asid karakterdeki katyon değiştirici rezinin, pirojenleri elimine etmekte etkili olmadığı bildirilmiştir. (4) Pirojenlerin, yüksek molekül ağırlığına sahip, lipopolisakarit yapıda maddeler olup, kanın alyuvarları ile etkileşerek "Lökosit Pirojen" olarak adlandırılan bir maddenin açığa çıkması-na neden oldukları (5) ve lökositler dışında başka dokulardan da elde edilebilecekleri gösterilmiştir (6) Bakteri pirojeninin sebep olduğu ateşin dolaşım, kalbin çalışma temposu ve verimi (5) renal plazma akışı (7), hepatik ve total dalak kan akımı üzerinde (8) arttırıcı etkileri olduğu saptanmış bulunmaktadır. Pirojen maddelerin yalnız vücuda injekte edildikleri zaman ateş yükselmesine neden oldukları (9) diğer steril preparatlar göz damlaları, göz pomatlarının kan dolaşımına geçemedikleri için pirojen reaksiyon vermedikleri bildirilmektedir. Parenteral solüsyonlar büyük hacimlerde damar içine verildikleri için pirojen reaksiyon verme olasılığı en fazla olan preparatlardır. Başlıca pirojen kaynakları: su, kontamine çözünen maddeler ve kablardır. (10) Parenteral solüsyon hazırlanmasında, İnjeksiyonluk Su (Pirojensiz Su) kullanılması uygundur. İngilteredeki yaklaşım, iyon değiştiren ticari karışık yataklı rezin kolonlarından geçirilen eşme suyunun, filt-rasyondan sonra İnjeksiyonluk Su olarak kullanılabileceği şeklinindedir. (9) Solüsyonun taşıdığı bakteri sayısıyla, pirojenik özellik göstermesi arasında bir ilişki olduğu ortaya konmuş bulunmaktadır (11). Ayrıca Bakteriostatik Membran Filt-relerle gerçekleştirilecek filtrasyonun, pirojenite tayini için bir metod olarak kul-lanılabilmesi de bildirilmektedir. (12)

MATERYAL VE METOD

Bu alışma 29.9.1983 te G.A.T.A. Farmakoloji ve Toksikoloji Enstitüsünde Başasistanlık Tezi olarak sunulmuştur.

Kullanılan Gereçler :

- 1- Elektrotermometre, Ellab Marka, 12 Kanallı,
- 2- Enjektör, 10-15-20 ml.lik
- 3- Enjektör İğneleri, 1-14 No.,
- 4- Tavşan Test Kafesi, 12 Adet.

Gereçlerin Apirojen Hale Getirilmesi :

Test için kullanılacak tüm enjektör ve enjektör iğneleri:

a-) Deterjanlı sıcak su bulunan (Distile su) bir küvet içine konularak üç saat süreyle ıslatıldılar. Daha sonra iğneler enjektörlere takılarak on defa bu suyla doldurulup boşaltıldılar.

b-) Deterjanlı sudan çıkarılan enjektör ve enjektör iğneleri, distile su bulunan başka bir küvet içinde en az on defa yıkandılar.

c-) Enjektör ve iğneler, aynı şekilde deterjanlı su ve distile su ile yıkanmış alüminyum yapraklara sarılarak, kapaklı, paslanmaz çelik bir küvetin içinde, sıcak hava fırınında, 250/C de bir saat tutularak apirojen hale getirildiler.

d-) Sıcak Hava Fırınından çıkarılan gereçler, aseptik çalışma dolabına yerleştirildiler.

Pirojenite Kontrolü Yapılacak Solüsyonların hazırlanışı :

G.A.T.A. Farmakoloji ve Toksikoloji Enstitüsünde Parenteral Solüsyonlar Laboratuvarında, rutin olarak üretilen Serum Glikoze % 5,500 cc. ler üzerinde çalışıldı. Vakumlu olmayan ve vidalı kapaklarla kapatılan, iç yüzeyleri silikonla kaplı cam şişeler içinde üretilen bu parenteral solüsyonların üretiminde kullanılan şişeler ve lastik mantarlar, ortalama olarak, şişeler için sekiz, lastik mantarlar için ise üç kez kullanılabilir. Silikon kaplı parenteral solüsyon şişelerinin ilk kez veya sekizinci kez bu amaçla kullanılmakta oluşunun, solüsyonun pirojenite göstermesine neden olup olmadığının saptanabilmesi için, yeni şişeler ve sekizinci kez bu amaçla kullanılacak şişelerde, solüsyon hazırlanarak teste tabi tutuldular.

Pirojen testinin uygulanışı, Türk Farmakopesi 1974 deki metoda göre yapıldı. Tavşanlardan ortalama ağırlıkları 1500 g. olanlar test için kullanıldı. Test işleminde kullanılması düşünülen 12 adet tavşan, bir ön testten geçirildiler. Bu ön test sonucunda seçilen tavşanların tümünün, esas test uygulanması için gerekli şartları taşıdıkları ve bu işlem için kullanılabilecekleri saptandı. Ön test işlemi esnasında, test hayvanı olarak kullanılan tavşanların rektumlarına Elektrotermometre Cihazının Elektroprobe'ları, Farmakopenin belirttiği şekilde, 5 cm. den az olmayacak şekilde sokuldu. Hayvanlar test kafeslerine yerleştirildikten sonra ilk sıcaklık ölçümü 90 dakika sonra yapıldı. Enjeksiyon tavşanların kulak marjinal venleri içine uygulandı ve enjeksiyonu takiben, her saat başı olmak üzere, üç saat sonrasına kadar, hem cihaz tarafından çizilen grafikten, hem de cihazın göstergesinden takip edilerek başlangıç ve maksimum sıcaklık tesbitleri yapıldı. Test işlemi sırasında hayvanların vücut ısılarında bir düşüş olduğunda, sonuç sıfır olarak kabul edildi ve bu şekilde değerlendirildi.

Sonuçlar, T.F. 1974 de mevcut cetvele göre değerlendirmeye alındı. Önce üç adet tavşan üzerinde uygulanan test sonucunda bu tavşanların vücut ısılarında görülen toplam değişikliğin, bu cetvelde gösterilen değerleri aşır aşmadığı saptandı. Eğer elde edilen değerler, cetvelde gösterilen değerleri aşıyorsa, üç tavşandan oluşan ikinci bir gruba test uygulandı.

B U L G U L A R

Çalışmanın ilk bölümünde, test için ayrılan Serum Glikoze % 5, 500 cc. solüsyonları, üç ayrı ortamda 12 hafta süreyle saklanarak periyodik olarak teste tabi tutuldular.

Saklama ortamları olarak Őu ortamlar seşildi:

- a-) Karanlıkta (+5°C de) Grup I
b-) Karanlıkta (+20°C de) Grup II
c-) Gün iŐıŐında (+20°C de) Grup III

Bu parenteral solüsyonların hazırlanışı esnasında, ilk kez kullanılan yeni Şişeler ve lk tabakasıyla kaplanmış lastik mantarlar kullanıldı. Uygulanan pirojen test sonuçları TABLO 1 de görülmektedir.

TABLO I- DeŐiŐik Şartlarda 12 Hft. Süreyle saklanan Serum Glikoze %5,500 cc. lerin pirojen Test Sonuçları.

	Grup I	Grup II	Grup III
BaŐlangıř	0,2	0,3	0,2
DeŐeri			
2. Hafta	0,5	0,2	0,2
4. Hafta	0,4	0,3	0,4
6. Hafta	0,5	0,5	0,7
8. Hafta	0,6	0,5	0,6
10. Hafta	0,6	0,5	0,7
12. Hafta	0,7	0,8	0,8
Test Sonucu	(—)	(—)	(—)

Grup I: Serum Glikoze % 5,500 cc. Karanlıkta (+5°C de)

Grup II: Serum Glikoze % 5,500 cc. Karanlıkta (+20°C de)

Grup III: Serum Glikoze % 5,500 cc. Gün IŐıŐında (+20°C de)

NOT: Tabloda verilen deŐerler üç adet tavŐanda görülen toplam vücut ısısı artıŐını (°C) olarak göstermektedir.

İlk kez kullanılan Serum Şişelerine-ve Sekizinci kez kullanılmakta olan serum Şişelerine doldurulan Serum Glikoze % 5,500 cc. solüsyonları 12 hafta süreyle karanlıkta, 20°C de bekletilerek periyodik olarak Pirojen testine tabi tutuldular. Sonuçlar TABLO II dedir.

İnce bir Lk tabakası ile kaplanmış olan ve bu lk tabakasının bulunmadıŐı lastik mantarlar kullanılarak kapatılan, Serum Şişelerine doldurulan Serum Glikoze % 5,500 cc. ler; karanlıkta, 20°C de 12 hafta süreyle bekletilerek periyodik Şekilde pirojen testine tabi tutuldular. Elde edilen sonuçlar TABLO III de görülmektedir.

TABLO II- İlk kez kullanılan ve sekiz kez kullanılmış Serum Şişelerine doldurulan Serum Glikoze % 5,500 cc. ler üzerinde yapılan Pirojen Test Sonuçları.

	Grup I	Grup II
Başlangıç Değeri	0,1	0,3
2. Hafta	0,3	0,3
4. Hafta	0,4	0,7
6. Hafta	0,6	0,6
8. Hafta	0,6	0,5
10. Hafta	0,5	0,7
12. Hafta	0,6	0,8
Test Sonucu	(—)	(—)

Grup I: İlk kez kullanılan Serum Şişelerine doldurulan Serum Glikoze % 5.500 cc. (Karanlıkta + 20°/C de).

Grup II: Sekiz kez kullanılan Serum Şişelerine doldurulan Serum Glikoze % 5.500 cc. (Karanlıkta, +20_o/C de).

TABLO III- Lâk tabakası taşıyan ve taşımayan Lastik Mantar kullanılarak hazırlanan Serum Glikoze % 5, 500 cc. lere uygulanan Pirojen Test sonuçları.

	Grup I	Grup II
Başlangıç Değeri	0,2	0,3
2. Hafta	0,3	0,5
4. Hafta	0,5	0,5
6. Hafta	0,6	0,7
8. Hafta	0,5	0,6
10. Hafta	0,5	0,7
12. Hafta	0,6	0,7
Test Sonucu	(—)	(—)

Grup I: İnce bir Lâk Tabakası ile kaplı lastik mantar taşıyan serum glikoze % 5,500 cc.

Grup II: Lâk tabakası taşımayan Lastik Mantarlı Serum Glikoze % 5,500 cc.

Distile suyun ajirojen şartlarda elde edilmesini takiben 90°/C de saklanabildiği ve U.V. lambası taşıyan Ajirojen Distile Su Saklama Tankları içinde bekletilen distile su ile normal distile su saklama tankında 12 hafta süreyle bekletilmiş distile sudan hazırlanan İotonik Solüsyonlar, tavşanlara injekte edilerek, pirojenite açısından incelendi. Sonuçlar TABLO IV dedir.

TABLO IV- Apirojen Distile Su Saklama Tankından alınan Distile Su ve Normal Distile Su Saklama Tankından alınan Distile Su ile hazırlanan İotonik Solüsyonlar üzerinde yapılan Pirojen testinin sonuçları.

	Grup I	Grup II
Başlangıç Değeri	0,5	0,8
2. Gün	0,5	1,95 (4,45)
7. Gün	0,7	—
Test Sonucu	(—)	(+)

Grup I: Apirojen Distile Su Saklama Tankından ki Distile Su ile hazırlanan İotonik Solüsyonlar.

Grup II: Normal Distile Su Saklama Tankındaki Distile Su ile hazırlanan İotonik Solüsyonlar.

Not: Grup II için parantez içinde verilen değer üç Tavşan kullanılarak yapılan ikinci pirojen test sonucunu göstermektedir. (Altı Tavşan için toplam değeri göstermektedir.)

Pirojen reaksiyon gösteren Serum Glikoze % 5,500 cc. lerle, test sonuçlarına göre apirojen oldukları saptanan Serum Glikoze % 5,500 cc. lerde solüsyonun pH değerlerinde bir değişiklik olup olmadığı hususu üzerinde de durularak gerekli ölçümler yapıldı. Bu ölçümler sonucunda elde edilen ortalama değerler tablo V de verilmiştir.

TABLO V- Pirojen Test Sonucu Pirojen Madde İçerdikleri Saptanan Serum Glikoze % 5.500 cc. ler ile Apirojen Özellikte Oldukları Saptanmış Serum Glikoze % 5.500 cc. lerin pH Değerlerinin Karşılaştırılması.

	Grup I	Grup II
Ort. pH Değeri	3,10	3,27

Grup I: Pozitif Pirojen Reaksiyon Gösteren Serum Glikoze % 5.500 cc.

Grup II: Negatif Pirojen Reaksiyon Gösteren Serum Glikoze % 5.500 c.c.

Tablodan da görüldüğü gibi, her iki grup parenteral solüsyon arasında pH değerleri açısından anlamlı bir farklılık saptanamadı.

Pirojen maddelerin tahribinde ısıyla sterilizasyon işleminin yeterli olup olmadığı konusu da incelenerek, pirojen reaksiyon verdiği daha önceden saptanmış Serum Glikoze % 5,500 cc. ler otoklavda 120/C de 20 dakika süreyle tutulduktan sonra pirojen testine tabi tutuldular. Elde edilen sonuçlar TABLO VI de verilmiştir.

TABLO VI- Pirojen Testine Pozitif Cevap Vereni Glikoze % 5,500 cc. lerin, Otoklav Sterilizasyonundan önce ve sonraki test sonuçları.

	I	II
Bulunan Değerler	1,95 (4,45)	1,80 (4,40)
Test Sonucu	(+)	(+)

I- Serum Glikoze % 5,500 cc. lerin, Otoklav Sterilizasyonundan önceki Pirojen Test Sonuçları.

II- Serum Glikoze % 5,500 cc. lerin, Otoklav Sterilizasyonundan sonraki Pirojen test sonuçları.

Not: Parantez içinde verilen değerler, 3 tavşan kullanılarak yapılan 2. test sonucunda, 6 tavşanın toplam vücut ısı değişikliğini göstermektedir.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Yaptığımız çalışma ve uyguladığımız testlerden elde ettiğimiz sonuçlara göre, G.A.T.A. Formakoloji ve Toksikoloji Enstitüsündeki Parenteral Solüsyonlar Laboratuvarında, vakum tertibatı kullanılmadan ve vidalı kapaklardan yararlanılarak hazırlanan Serum Glikoze % 5,500 cc. lerde, bu amaçla kullanılan İç yüzeyleri silikon kaplı Serum Şişelerinin 8 kez, lastik mantarların 3 kez kullanılmalarına karşılık, 12 hafta değişik şartlarda saklama sonucunda yapılan periyodik pirojen test uygulamasında, pozitif reaksiyon vermedikleri saptandı. Bu parenteral solüsyon örneklerinin konuldukları silikon kaplı şişelerle üretimlerinde kullanılan lastik mantarların defalarca kullanılmalarına karşın, pirojenite açısından bir sakınca taşımadıkları sonucuna varıldı. Bu da gösterdiği, çeşitli nedenlerle üretim esnasındaki pirojen madde kontaminasyonundan korunabilen parenteral solüsyonlar, çok olumsuz saklama şartlarında dahi, 12 hafta gibi bir süre sonunda hastaya uygulanabilme özelliklerini koruyabilmektedirler.

Pirojen oluşmuş veya pirojenle kontamine olmuş parenteral solüsyonun, apirojen hale getirilmesi için uygulanan otoklav sterilizasyonu (120°C de 20 dakika) işleminin yarar sağlamadığı ve bu solüsyonların verdikleri pozitif pirojen reaksiyonda, otoklav sterilizasyonunu takiben de bir azalma olmadığı saptandı.

Pirojenite ile solüsyonun pH değeri arasında bir ilişki bulunamadı.

Elde edilen taze distile suyun, parenteral solüsyon hazırlanacaksa Apirojen Distile Su Saklama Tanklarında 90°C civarında saklanması, suyun uzun bir süre apirojen özelliğini sürdürmesini sağladığı tesbit edildi.

SUMMARY

FACTORS, WHICH INFLUENCE FORMATION AND INCREASE OF PYROGENS IN PARENTERAL SOLUTIONS

In this study, Dextrose Inj. 5 % , 500 ml. solutions, produced at G.A.T.A. Laboratory For Parenteral Solutions, were tested and investigated, whether different storage conditions, light, temperature variations were effective on formation of pyrogens or not. According to obtained results, it was determined that, besides these factors, laccover of rubber caps and repeatedly usage of bottles and rubber caps had no effect on formation of pyrogens too. Unability of autoclave sterilization on deterioration of pyrogens was also determined. There was no relation between pH value of solution and pyrogenic effect.

KAYNAKLAR

1. İZGÜ, E. Genel ve Endüstriel Farmasi I, Ayyıldız Matbaası, 1973.
2. WYLIE D.W.-TODD, J.P. Q. JI. Pharm. Pharmac. I, 818-835, 1948.
3. PALMER, C.H.R., Ph. D. Thesis, London University, 1967.
4. PALMER, C.H.R.-WHITTET, T.D.J, Pharm. and Pharmac. 13, 62T, 1961.
5. COOPER, K.E., CIBA Found. Symp. 5-16, 1971.
6. ATKINS, E.-SNELL, E.S., Bacterial Endotoxins, 134-143, 1964.
7. GOLDRING, W.J., Clin. Invest. 20, 637, 1941.
8. BRADLEY, S.E.-CONAN, N.J., J. Clin. Invest. 26, 1175, 1947.
9. PALMER, C.H.R., CIBA Found, Symp, 193-205, 1971.
10. LACHMAN, L.-LIEBERMAN, H.A., KANIĞ, J.L., The Theory and Practice of Industrial Pharmacy 588, Lea Febiger, Phil., 1976.
11. MARCUS, S.-ANSELMO, C.-LUKE, J., J. Am. Pharm. Ass. Sci. E. 49, 616-9, 1960.
12. MARCUS, S. Bulletin Parent. Drug. Ass 18, 18-24, 1964.
13. TÜRK FARMAKOPESİ 1974, Milli Eğitim Basımevi, İstanbul, 1974.